

## **Карактеризација и евалуација на наночестички со PLGA за контролирана испорака на лекови**

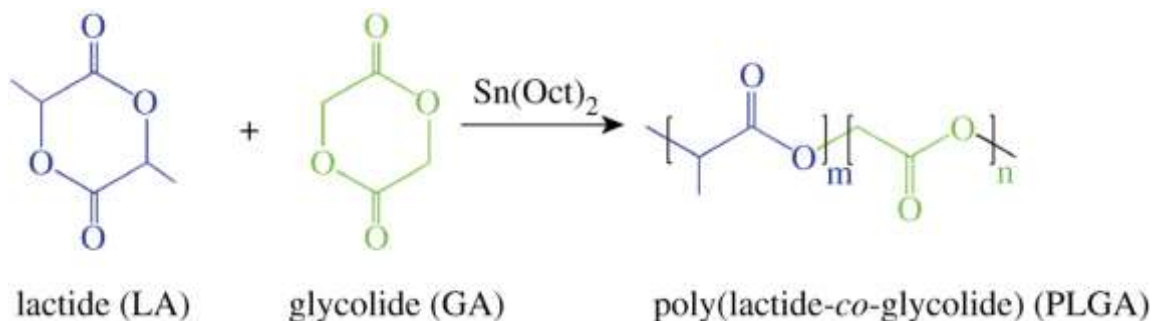
Испораката на терапевтски активни супстанции до целното ткиво претставува огромен проблем во терапијата на многу болести. Конвенционалната терапија се карактеризира со слаба биорасположивост, намалена ефективност, несакани ефекти и намалена селективност. Со цел да се надминат овие проблеми, како потенцијална стратегија е инкорпорирање на активните супстанции во наночестички. Како носачи на различни видови лекови, наночестичките обезбедуваат контролирана испорака на активната супстанца до целното ткиво, заштита од брза деградација и клиренс и висока терапевтска концентрација. Постигнувањето на оптималната терапевтска концентрација со помош на наночестички во таргет ткивата ја налага потребата и од пониска доза на активната супстанца. Контролирањето на терапевтската концентрација на активната супстанца е од клучно значење за постигнување на оптимални резултати со минимизирани несакани ефекти. Современите методи кои се користат за изработка на наночестички обезбедуваат намалување на димензиите на истите што обезбедува уникатни физичко-хемиски и биолошки карактеристики. Примената на овие методи ги прават нано-структурите едни од преферираните материјали за биомедицинска апликација, со исклучително значење и примена за фармацевтски цели. Во прилог, начинот на формулација како и употребата на појдовните материјали за изработка на наночестичките кои генерално се биодеградибилни предизвикува намалена токсичност, подобрување на ослободувањето на активната супстанца *in vitro* и *in vivo*, зголемување на растворливоста и оптимизација на биорасположливоста.

Во последните три децении интересот особено е фокусиран врз формулација на наночестички на основа на биоразградливи полимери. Овие полимери се природни или синтетички по потекло, кои генерално се метаболизираат до биокомпатибилни и безбедни мономери нормално присутни во телото. Биодеградибилните полимери се класифицираат на природни и синтетски. Синтетските биоразградливи полимери кои најчесто се користат за формулација на наночестички за испорака на лекови вклучуваат релативно хидрофобни материјали, како што се  $\alpha$ -хидрокси киселини (поли млечна ко-

гликолна киселина, PLGA), полианхидриди, и други и природни полимери, како што се комплексни шеќери (хијалуронан, хитосан) и неоргански биоматеријали како хидроксиапатит. Помеѓу достапните биоматеријали, примената на PLGA покажала огромен потенцијал како носач за испорака на лекови. Екстензивните клинички проучувања се должат на фактот што овој полимер е одобрен од FDA, физички е доста стабилен и биокомпатибилен што претставува идеален кандидат за испорака на лекови, протеини, полипептиди, ДНК и РНК.

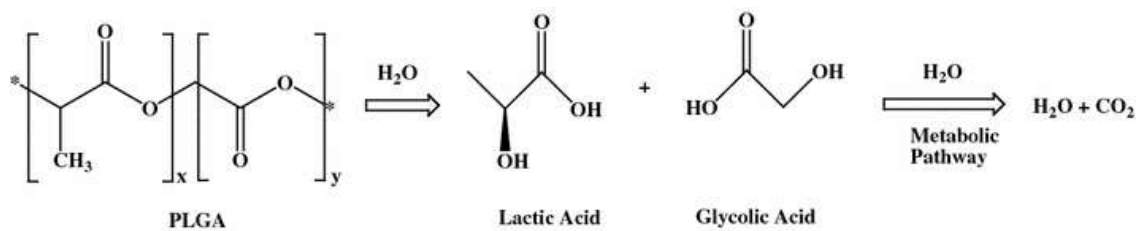
### Полилактид ко-гликолид (PLGA) базирани наночестички

PLGA претставува кополимер на поли-млечната киселина (PLA) и поли гликолна киселина (PGA). Се добива со процесот на кополимеризација на цикличните димери (1,4-dioxane-2, 5-diones) од гликолната и млечната киселина. Вообичаено, како катализатори при овој процес се употребуваат калај 2-елилхексаонат, калај 2-алкоксид или алуминиум изопропоксид. Во процесот на полимеризација, мономерните единици се поврзуваат меѓусебно со помош на естерска врска, образувајќи линеарен, аморфен полимер. Шематски, процесот е претставен на Слика бр.1.



Слика бр.1. Добивање на PLGA со процес на полимеризација

Овој полимер е особено актуелен и детерминиран како безбеден бидејќи во телото се хидролизира до биодеградибилни мономерни (млечна и гликолна киселина), кои се метаболизираат со Кребсов циклус и се отстрануваат од телото во облик на јаглерод диоксид и вода што резултира со минимална системска токсичност.

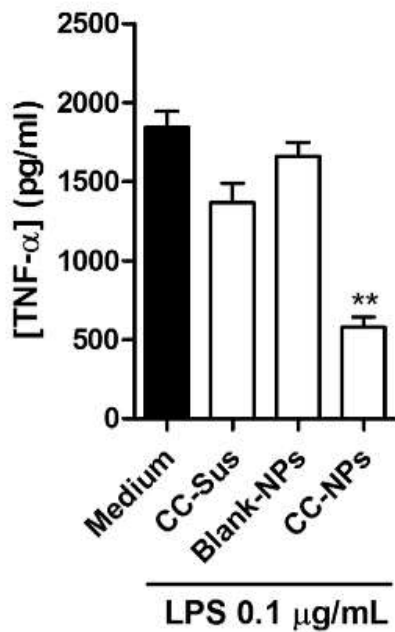


Слика бр.2. Метаболизам на PLGA

Дополнителна предност, особено во нанотехнологијата, претставува можноста од формулација на кополимери со различна молекулска маса преку варијација во соодносот меѓу мономерните единици што обезбедува продолжување на времето на деградација, поголема стабилност и можност за инкорпорирање на хидрофилни и хидрофобни лекови за насочена испорака до целните ткива. Генерално, времето на деградација е значително пократко кај кополимери со повисока содржина на гликолиди поради високата хидрофилност, ниската молекулска маса и аморфната форма. Покрај наведените, деградацијата на PLGA зависи и од начинот на подготовка на наночестичките, големината, формата, физичко-хемиските параметри (pH, температура) и механизмот на хидролиза. Генерално, PLGA наночестичките се интернализираат во клетката преку клатрин посредувана ендоцитоза. Оваа интеракција локално предизвикува реверзибилна промена на везикуларната мембрана и навлегување на наночестичките во цитоплазмата по само 10 минутна експозиција. Површинскиот полнеж има исклучително влијание врз интернализацијата на наночестичките во клетката. Позитивно наелектризираните честички имаат афинитет кон негативно наелектризираната мембрана и обезбедуваат повисок степен на интернализација. Спротивно, кај негативно наелектризираните наночестички потребна е површинка модификација со хитозан или полиетилен гликол со цел да се обезбеди навлегување на истите во клетката.

## **Употреба на PLGA наночестички при третман на инфламаторни заболувања на цревата**

Улцеративниот колит и Кронвата болест претставуваат најчестите форми на инфламаторни заболувања на цревата. Генерално, конвенционалниот третман на овие заболувања е сличен и вклучува примена на 5-аминосалицилна киселина, кортикостероиди, антибиотици и во одредени случаи имуносупресиви и биолошки лекови. Сепак, постепеното зголемување на дневниот внес, неопходно за да се одржи фармаколошкиот ефект, резултира со сериозни несакани ефекти. Со цел да се надминат овие недостатоци, спроведени се клинички студии со инкорпорирање на активни супстанции во PLGA наночестички, како соодветни кандидати за испорака до целното ткиво при инфламаторни болести на цревата. Со примена на наночестички се обезбедува акумулација на истите на површината од улцерираното ткиво поради големата содржина на слуз и, соодветно, ослободување на активната супстанца на целното место. Можноста за површинска модификација на PLGA наночестичките дополнително ја зголемува нивната примена во третман на воспалителни заболувања на цревата. За дополнителна заштита од киселата pH средина и ензимска деградација при транспортот низ ГИТ, метод од избор при формулација на наночестичките е обложување со pH сензитивен полимер, на пример Еудрагит. Односно, при модификација со Eudragit со инкорпориран куркумин, кој поседува силна антиинфламаторна активност, забележана е значително повисока пермеација низ монослојот од CaCo 2 клетки, споредено со куркумин применет во облик на суспензија. Исто така, секрецијата на TNF- $\alpha$  од страна на J774 макрофагите и инфилтрацијата на неутрофилите ин виво била значително намалена при апликацијата на куркумин инкорпориран во новоформулираните pH сензитивни наночестички.



Слика бр. 3. Употреба на PLGA NPs при третман на инфламаторни заболувања на цревата

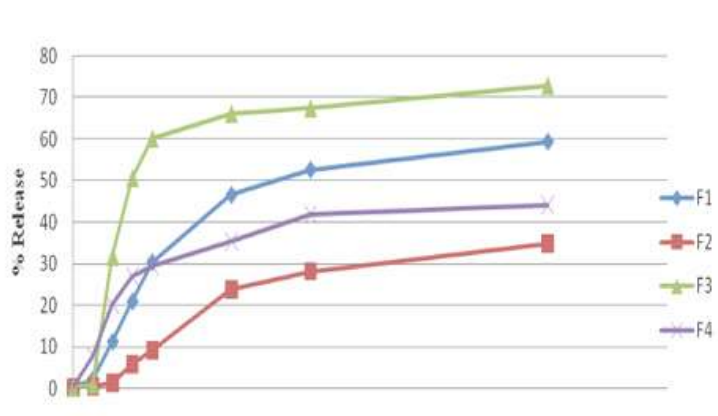
Слични резултати биле постигнати и при употреба на pH сензитивни Eudragit/PLGA наночестички со инкорпориран буденозид.

Во друга клиничка студија направена е споредба при употреба на Циклоспорин А инкорпориран во слободни PLGA наночестички и наночестички модифицирани со Eudragit. Резултатите покажале целосно ослободување на активната супстанца од необложените наночестички во желудникот уште во првиот час од апликацијата, што значително го зголемува ризикот од системска апсорпција и појава на несакани ефекти. Спротивно, при површинско обложување со pH сензитивен полимер, активната супстанца се ослободила во улцеративната лезија, обезбедила намалување на појавата на ректално крварење, дијареа и губење на тежината. Со оваа студија дополнително се докажува дека PLGA наночестичките се идеални кандидати за испорака на лекови при инфламаторни болести на цревата, поради можноста од модификација на површината со различни полимери без интеракција меѓу истите докажано со диференцијална скенирачка калориметрија.

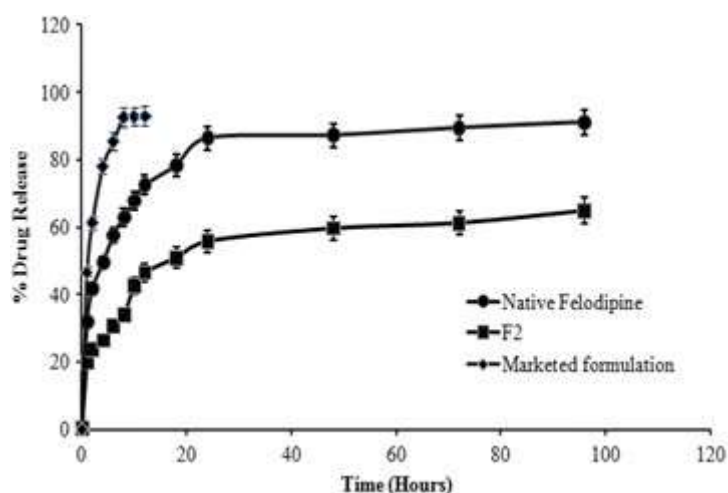
## Употреба на PLGA наночестички за испорака на лекови против хипертензија

Хипертензијата е водечки фактор за појава на кардиоваскуларни заболувања. Докажано е дека 40% од развиените формулации за третман на хипертензија се карактеризираат со ниска растворливост и липофилност што е проследено со ниска биорасположивост и, последователно, фреквентно дозирање за да се постигне терапевтската концентрација. Со цел да се постигне продолжено ослободување и намалување на фреквенцијата на дозирање, формулирани се полимерни наночестички за испорака на антихипертензивни агенси.

На пример, во една клиничка студија рамиприлот бил инкорпориран во PLGA наночестички со помош на методот на нанопреципитација, користејќи Pluronic како стабилизатор. Рамиприлот претставува потентен антихипертензивен агенс, кој, нажалост, се карактеризира со слаба растворливост во вода и биорасположивост од само 28-32%. Резултатите од спроведената студија покажале дека нанопреципитацијата е метод од избор при инкорпорирање на липофилни лекови, со ефективност на енкапсулирање од 85%. Исто така, формулираните наночестички обезбедиле продолжено ослободување на рамиприл, кое зависи од соодносот меѓу полимерот и стабилизаторот. Односно, со намалување на големината на честичките зголемување на концентрацијата на Pluronic и намалување на концентрацијата на PLGA се постигнало продолжено ослободување на околу 80% од инкорпорираниот рамиприл.



Со цел да се подобри фармакокинетскиот профил на фелодипин, истиот бил инкорпориран во PLGA наночестички, со помош на методот на емулзификација, проследен со испарување на органскиот растворувач. Фелодипинот спаѓа во групата на калциумови блокатори и се карактеризира со ниска водорастворливост и иницијално ослободување при апликација на конвенционалните дозирани форми. При инкорпорирање во биодеградибилните наночестички, фелодипинот ин vivo не предизвикал промена на биохемиските параметри, ниту пак детектирана нанотоксичност врз бубрезите, срцето и хепарот по орална администрација на подготвената формулација. Со енкапсулирање во PLGA наночестички, фелодипинот следел продолжено ослободување, без иницијалниот burst ефект карактеристичен за патентираните препарати. Резултатите се претставени на слика број 4.



Слика бр.4. Употреба на PLGA NPs обложени со фелодипин

### Патентирани формулации на основа на PLGA за испорака на лекови

Поради зголемената популарност на наночестичките на основа на PLGA за испорака на лекови, бројот на патентирани формулации сè повеќе се зголемува. Во табела 2 се претставени комерцијално достапните наночестички за испорака на лекови при различни заболувања.

Табела 2. Патентирани формулации на основа на PLGA за испорака на лекови

Трговско име (лек)	Производ	Полимер	Индикации	Метод	Компанија
Lupron Depot® (Leuprolideacetate)	Lupron Depot,7.5mg (месец)	PLGA	Палијативен третман на напреднат рак на простата	Емузија	Takeda
	Lupron Depot, 3.75mg (1 месец )	PLA	Ендометриоза		
	Lupton depot, 11.25mg (3 месеци)		Палијативен третман на напреднат рак на простата		
	Lupton depot,22.5mg(3 месеци)		Предвремен пубертет кај деца		
	Lupton depot, 30mg(4месеци)				
	Lupton depot, 45mg(6 месеци)	PLGA			
	Lupton depot PED, 7.5mg(1 месец)	PLA			
	Lupton depot PED, 11.25mg (3 месеци)				
Sandostatin®Lar® (Octreotide acetate)	Sandostatin LAR Depot (1 месец )	PLGA	Акромегалија, карцеоидни тумори, <u>VIPomas</u>	Емулзија	Novartis
Trelstar™ Depot (Triptorelinpamoate)	Trelstar LA 3.75mg (1 месец)	PLGA	Палијативен третман на напреднат рак на простата	Сушење со распрскување	Watson Pharma
Bydureon (Exenatide)	Bydureon (Недеолно)	PLGA	Тип 2 дијабет	Емулзија	Amyllin/Eli Lilly/Alkermes

## Заклучок

Резултатите од клиничките студии потврдуваат дека PLGA наночестичките претставуваат одлични потенцијални системи за испорака на лекови.

- ✓ PLGA како наносистеми се формулирани од материјали кои се биокompatibilни, биодеградибилни и неимуногени
- ✓ Поседуваат уникатни својства како термодинамичка стабилност, мали димензии на честичките (1-200 nm), низок индекс на полидисперзност и негативен зета потенцијал



- ✓ Методите на подготовка се достапни
- ✓ Структурата е компатибилна за низа хидрофилни и хидрофобни активни супстанции со висока ефикасност на енкапсулирање користејќи различни методи на подготовка
- ✓ Обезбедуваат контролирана испорака на различни видови активни супстанции проследено со зголемување на терапевтскиот ефект, постигнување на висока концентрација во целната клетка и намалување на можноста од појава на несакани ефекти
- ✓ Постои можност за модифицирање на мембраната со специфични лиганди кои ќе обезбедат целна испорака кон одредени туморни клетки со експресирани рецептори што ќе овозможи контролирано ослободување на активната супстанца во малигната клетка без да бидат засегнати околните ткива.

И покрај бројните предности со кои располагаат, сепак постојат одредени недостатоци кои ја ограничуваат нивната примена. Генерално, станува збор за комплексниот процес на производство што во одредени случаи предизвикува ниска ефективност на енкапсулирање. Исто така, процесите на производство се доста скапи и се потребни неколку серии со цел да се потврдат резултатите од клиничките испитувања. Затоа, PLGA наночестичките се предмет на понатамошни, долгогодишни истражувања кои ќе гарантираат добивање на сигурни, ефикасни и безбедни комерцијално достапни формулации.

**Доц.д-р. Елена Дракалска**

**Проф.д-р. Бистра Ангеловска**

**Асс.м-р. Марија Штерјова**

**М-р. Даниел Цветановски**

## Користена литература

Beloqui A, Coco R, Memvanga PB, Ucar B, des Rieux A, Pr  at V (2014). pH-sensitive nanoparticles for colonic delivery of curcumin in inflammatory bowel disease. *Int J Pharm.* 2014 Oct 1;473(1-2):203-12. doi: 10.1016/j.ijpharm.2014.07.009. Epub 2014 Jul 8.

Naeem, M., Bae, J., Oshi, M. A., Kim, M.-S., Moon, H. R., Lee, B. L., ... Yoo, J.-W. (2018). Colon-targeted delivery of cyclosporine A using dual-functional Eudragit   FS30D/PLGA nanoparticles ameliorates murine experimental colitis. *International Journal of Nanomedicine*, 13, 1225–1240. <http://doi.org/10.2147/IJN.S157566>

N.Jawahar, T.Eagappanath, Nagasamy Venkatesh, Jubie.S, Samanta M.K (2009); Preparation and Characterization of PLGA-Nanoparticles containing an Anti-hypertensive agent *International Journal of PharmTech Research*; ISSN : 0974-4304 Vol.1, No.2, pp 390-393;

Utpal JanaEmail authorAnjan Kumar MohantySovan Lal PalPrabal Kumar MannaGuru Prasad Mohanta (2014); Felodipine loaded PLGA nanoparticles: preparation, physicochemical characterization and in vivo toxicity study; <https://doi.org/10.1186/s40580-014-0031-5>

Fabienne Danhier a, Eduardo Ansorena a, Joana M. Silva a,b, R  gis Coco a, Aude Le Breton a, V  ronique Pr  at (2012) PLGA-based nanoparticles: An overview of biomedical applications doi: 10.1016/j.jconrel.2012.01.043

Indu Bala, Sarita Hariharan, & MNV Ravi Kumar (2004) PLGA Nanoparticles in Drug Delivery: The State of the Art doi:10.1615/CritRevTherDrugCarrierSyst.v21.i5.20

Yichao Wang, Puwang Li, Thao Truong-Dinh Tran,Juan Zhang, and Lingxue Kong (2016) Manufacturing Techniques and Surface Engineering of Polymer Based Nanoparticles for Targeted Drug Delivery to Cancer doi: 10.3390/nano6020026

Shweta Sharma, Ankush Parmar, Shivpoojan Kori, Rajat Sandhir (2016); PLGA-based nanoparticles: A new paradigm in biomedical applications *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, Volume 80, June 2016, Pages 30-40